

**Klinik, Serologie und Therapie der Trypanosoma
evansi-Infektion (Stamm Bali) beim Goldhamster**

Manfred Schärfl

1977

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin
und Parasitologie des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch

KLINIK, SEROLOGIE UND THERAPIE DER TRYPANOSOMA
EVANSI-INFEKTION (STAMM BALI) BEIM GOLDHAMSTER

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen
Doktorwürde des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Manfred Schärfl
aus
Nürnberg

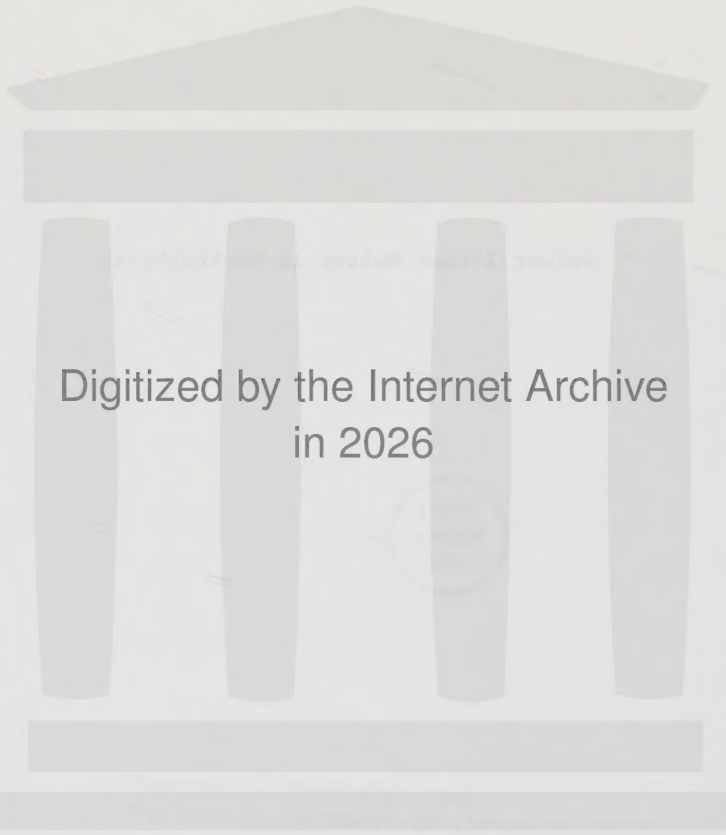
München 1976



Gedruckt mit Genehmigung des
Fachbereichs Tiermedizin der Universität München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Prof. Dr. Dr. h. c. J. Boch
Korreferent: Prof. Dr. H. G. Buschmann

Tag der Promotion: 25. Februar 1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Klinik, Serologie und Therapie der Trypanosoma evansi-Infektion bei Labortieren (anhand der Literatur) .	2
III. Eigene Untersuchungen	11
A. Material und Methoden	11
B. Ergebnisse	15
1. Verlauf der Trypanosoma evansi-Infektion	15
2. Therapieversuche mit Berenil..	21
a) 7 mg/kg KG	21
b) 14 mg/kg KG	24
c) 21 mg/kg KG	26
IV. Besprechung der Ergebnisse	28
V. Zusammenfassung (Summary)	33
VI. Literaturverzeichnis	35

Lebenslauf

I. Einleitung

Trypanosoma evansi, das bei Kamelen, Pferden, Hunden und Wiederkäuern die "Surra" verursacht, ist heute vom afro-asiatischen Raum bis in die meisten Länder Südostasiens, einschließlich dem Indo-Malayischen Archipel verbreitet. Mit Rinder- und Pferdetransporten ist sie schon in früheren Jahrhunderten in die neue Welt verschleppt worden. Da sie bei Kamelen und Pferden stark ausgeprägte klinische Symptome hervorruft und in zahlreichen Fällen zum Tode führt, sind die wirtschaftlichen Verluste in den betroffenen Ländern von Bedeutung.

Der Goldhamster hatte sich für einen Laborstamm (Stamm Bogor) als ideales Versuchstier erwiesen. Aufgabe meiner Arbeit war es, den durch den Feldstamm Bali bei Goldhamstern ausgelösten Krankheitsverlauf klinisch und serologisch zu untersuchen.

II. Klinik, Serologie und Therapie der Trypanosoma evansi-Infektion bei Labortieren.

(anhand der Literatur)

Bei Trypanosoma evansi handelt es sich um einen schlanken, lanzettförmigen Flagellaten, der im Blut verschiedener Säugetiere parasitiert. Diese Trypanosoma-Art wird als monomorph bezeichnet, da die "stumpy" Formen nur in verschwindend geringer Zahl auftreten (0,03 - 0,05 %; LAVIER, 1933, zit. in HOARE, 1972).

Das Trypanosom besitzt eine undulierende Membran, die aus dem am Hinterende gelegenen Kinetoplasten entspringt sowie eine freibewegliche Geißel.

HOARE und BENNETT (1937) beschrieben erstmals das Vorkommen dyskinetoplastischer Formen. Auch KILLICK-KENDRICK (1964) berichtet über den offenkundigen Verlust des Kinetoplasten bei einem experimentell mit Trypanosoma evansi infizierten Pferd nach der Behandlung mit Berenil. Denn wenn gewisse Trypanosoma evansi-Stämme über viele Jahre hinweg in Laboratorien durch Passagen aufrecht erhalten werden, z. B. der Stamm Bogor, kann es zur Dyskinetoplasie kommen.

HOARE und BENNETT (1939, zit. in HOARE, 1972) beschrieben einen Trypanosoma evansi-Stamm, der zuerst nur 1 % dyskinetoplastische Formen enthielt; durch mehrere Passagen über Nager aber entwickelten sich bis zu 70 %.

Übertragen wird die "Surra" unter natürlichen Bedingungen mechanisch hauptsächlich durch Tabaniden. Dies stellte bereits ROGERS (1901) fest. Werden Tabaniden bei ihrer Nahrungsaufnahme am infizierten Wirt gestört und setzen sie sich erneut auf ein bisher nicht infiziertes Tier, so erfolgt eine Übertragung. Je kürzer das Intervall zwischen beiden Mahlzeiten ist, desto größer sind die Chancen einer erfolgreichen Übertragung, da die Blutformen bei längerem Aufenthalt (8 Stunden) in den Mundwerkzeugen der Tabaniden zugrunde gehen.

In Mittel- und Südamerika können Trypanosomen auch durch Fledermäuse übertragen werden (HOARE, 1965).

Als natürliche Wirte kommen Haus- und Wildtiere infrage. Besonders empfänglich sind Kamele, Pferde, Hunde und kleine Wiederkäuer. Da Rinder nur latent infiziert sind, stellen sie ein wichtiges Erregerreservoir dar, ebenso latent infizierte Wildtiere.

Der Verlauf der Infektion hängt von der Empfänglichkeit des Wirtes, der Virulenz des Erregerstammes, dem Standort, der Tierart und den örtlichen epizootischen Bedingungen ab. Die Präpatenzzeit schwankt bei den einzelnen Tierarten zwischen 4 Tagen und mehreren Monaten. In späteren Stadien der Infektion können die Parasiten aus dem Blut verschwinden, treten aber dann plötzlich wieder auf.

Die Präpatenzzeit beträgt bei Pferden 4 - 9 Tage (BAROTTE, 1925; GALUZO und NOVINSKAJA, 1960), bei Kamelen 1 - 3 Wochen (BAROTTE, 1925;), bei Hunden 5 - 10 Tage (BAROTTE, 1925; GOMEZ RODRIGUEZ, 1956), bei Schweinen 24 - 30 Tage (SRIVASTAVA und

AHLUWALIA, 1972), bei Katzen 14 - 15 Tage (CHOUDHURY und MISRA, 1972). JATKAR und PUROHIT (1971) beschreiben bei Kamelen eine Präpatenzzeit von 3 - 6 Tagen. ASSOKU (1975) berichtet über eine Präpatenz bei Ratten von 3 - 5 Tagen; bei Mäusen dauert sie nur 1 Tag (RAETHER, 1971), bei Meerschweinchen 3 - 8 Tage, wobei sie um so kürzer ist, je höher die Infektionsdosis bzw. je jünger die Tiere sind (BHATTACHARYYA und SINHA, 1974).

Allgemein kann ein akuter und ein chronischer Krankheitsverlauf unterschieden werden. Leitsymptome sind rezidivierendes Fieber, Anämie, Ödeme und Kachexie. Den ausgeprägtesten Krankheitsverlauf zeigen Pferde, Kamele und Hunde, bei denen etwa 50 % der Fälle tödlich verlaufen. Symptomlos verläuft die Infektion im allgemeinen beim Rind und beim Schwein. Schaf und Ziege nehmen eine Zwischenstellung ein. In ausführlichen Untersuchungen an mit Trypanosoma evansi infizierten Ratten und Mäusen zeigte KRIJGSMAN (1933), daß die Parasitämie progressiv bis zum Tode ansteigt, außerdem war die Dauer der Infektion von der verabreichten Trypanosomendosis abhängig.

Der klinische Verlauf bei Labortieren ist vielfach, allerdings unter Verwendung unterschiedlicher Erregerstämme, untersucht worden. MANUEL (1971) wies an weißen Ratten nach, daß die Präpatenzzeit 3 - 5 Tage dauert und die Tiere gewöhnlich am 6. - 8. Tag p. i. sterben. MORALES und CARRENO (1976) machten Infektionsversuche an "Proechimys-Ratten". Alle Tiere zeigten 96 Stunden p. i. Parasiten im Blut. Sie starben in extremen Fällen nach 5 - 6 Monaten. Die Para-

sitätämie steigt allmählich an und erreicht am 10. Tage ihren ersten Peak. Bei fortschreitender Krankheit werden die Ratten stumpfsinnig und leiden an Anorexie. Subkutane Ödeme an Lippen, Ohren, Kopf und Gliedern treten bei einzelnen Tieren vom 15. Tage p. i. auf. Einige Ratten zeigten nervöse Anzeichen, wie Parese, Inkoordination, Tremor und gelegentliche Übererregbarkeit kurze Zeit vor dem Koma (ASSOKU, 1975).

Bei Kaninchen beträgt die Präpatenz 9 Tage und die Krankheit endet nach 29 - 90 Tagen tödlich (MANUEL, 1971). Ekzematöse Veränderungen wurden am Kopf der Kaninchen beobachtet. Später litten sie an katarrhalischer Konjunktivitis, Rhinitis, Gewichtsabnahme und Appetitverlust. Die Tiere wurden depressiv. Muköse Ausflüsse aus Augen- und Nasenlöchern hielten 1 - 2 Wochen an und wurden später eitrig. Hinzu kamen Haarausfall, beschleunigte Atmung und Dyspnoe. Bei fortschreitender Krankheit wurden die Augen- und Nasenausflüsse muco-purulent; die Augen waren geschwollen und Blepharitis sowie Blepharophimosis stellten sich in der dritten Woche der Infektion ein. Die Temperatur schwankte zwischen 39° - 41° C. Bei einigen Kaninchen waren auch Paresen der Hintergliedmaßen zu sehen. Scrotum, Vulva und Ohren waren geschwollen und ödematös, das Haarkleid wurde stumpf und glanzlos. Im Endstadium stellte sich starke Abmagerung und völlige Erschöpfung ein (MANUEL, 1971).

Bei Katzen erscheinen die Parasiten 14 - 15 Tage p. i. im Blut. 3 - 4 Monate alte Tiere können beim ersten Peak der Parasitämie sterben. Die Peaks erscheinen

alle 14 - 15 Tage und dauern 4 Tage lang. Gleichzeitig steigt deutlich die Körpertemperatur an (CHOUDHURY und MISRA, 1972).

Bei jungen Hunden wurde während der latenten Infektion Anämie und Anstieg der Leukozyten nach der Inokulation festgestellt. Der Leukozytenanstieg blieb jedoch nur kurze Zeit bestehen.

Bei künstlich mit dem Stamm Bogor infizierten Goldhamstern stellte EINWALD (1976) einen chronischen Krankheitsverlauf fest. Unabhängig von der Infektionsdosis traten intermittierendes Fieber, Hautveränderungen, Lymphknotenschwellungen und Kachexie auf. Die Tiere starben nach 6 - 28 Wochen. Bei regelmäßigen Blutuntersuchungen fielen die fluktuierende Parasitämie, eine makrozytäre Anämie sowie die Zunahme der Leukozyten auf.

Als Parameter für die Bewertung des Grades der Anämie dienen die Erythrozytenzahl, der Hämoglobingehalt und der Hämatokrit. Bei jungen Hunden wurden (SAMADDAR, 1969) während der *Trypanosoma evansi*-Infektion ein Abfall der Erythrozyten von 5,04 Mill./mm³ auf 1,74 Mill./mm³ und des Hämoglobins von 10 g% auf 6,2 g% beobachtet. Bei Kaninchen jedoch konnte während des Krankheitsverlaufes lediglich eine Abnahme um etwa 1 Mill. Erythrozyten beobachtet werden.

Bei Ratten fiel der Hämoglobingehalt von 15,4 g% auf 7,2 g%, der Hämatokrit von 37,6% auf 15,8%. Die Anämie wurde bei allen infizierten Ratten von einer starken Retikulozytose begleitet. Nach JATKAR und PUROHIT (1971) fiel bei Ratten die Erythrozytenzahl von 8,25 Mill./mm³ auf 2,59 Mill./mm³, der Hämoglobingehalt von 11,69 g% auf 6,37 g% und der Hämatokrit

von 45,6 Vol. % auf 26,85 Vol. %. Das durchschnittliche Erythrozytenvolumen wuchs von 59 μm auf 105 μm an, was auf eine makrozytäre Anämie hinweist.

Gleichzeitig kam es zu einem erheblichen Anstieg der Leukozyten. Bei den Ratten stiegen die Zellen um 9000/mm³ Blut.

MANUEL (1971) stellte bei der Sektion von mit Trypanosoma evansi infizierten Kaninchen Splenomegalie mit teeriger Exsudation, Hepatomegalie, vergrößerte Nieren, Lungenemphysem, Ascites, eine überdehnte Harnblase und geschwollene Lymphknoten fest. Bei Ratten beschreibt ASSOKU (1974) Milzgewichte nahezu vervierfacht und die Leber, die mehr als das Dreifache des Normalgewichts aufwies. SRIVASTAVA und Mitarb. (1967) fanden bei Hunden große Blutfülle und Vergrößerung der Milz, Kongestion der Lunge, Leber und Niere, serös bis serofibrinösen Ausfluß in Pericard, Pleura- und Peritonealhöhle. Die Gehirnhäute waren durch eine seröse Flüssigkeit angehoben und es bestand Kongestion der Kapillaren in der grauen und weißen Substanz des Groß- und Kleinhirns.

Das Wirtstier entwickelt eine Immunität gegen Reinfektionen, während Kreuzimmunitätsversuche auf die Existenz von serologisch verschiedenen Stämmen hinweisen.

GILL zeigte 1965 an gegen Trypanosoma evansi immunisierten Nagern, daß diese zwar gegenüber homologen, nicht jedoch heterologen Stämmen geschützt waren. Er stellte ferner für Trypanosoma evansi 3 Antigene fest, die aus einem internen Antigen, welches erst nach Zerstörung des Parasiten frei wird, einem an der Oberfläche liegenden externen Antigen und einem an die Umgebung (z. B. an das Serum) abgegebenen freien Antigen bestehen. Weiterhin ist bekannt, daß einzelne Trypanosoma evansi-Stämme sich in ihrer Antigenpotenz unterscheiden. Außerdem können sich verschiedene Antigen-Varianten im Laufe der Infektion ausbilden (LUMSDEN, 1967).

Die Diagnose der akuten und subakuten Trypanosomose ist durch den Nachweis der Parasiten im Blutausstrich möglich. Zur Sicherung der chronischen Verlaufsform wurden verschiedene serologische Verfahren angewandt.

GILL (1965) verwendete bei Kaninchen den Agglutinationstest, Präzipitationstest, Neutralisationstest, den indirekten Fluoreszenz Antikörper Test und die KBR.

Der Agglutinations- und Hämagglutinationstest erwiesen sich als am meisten empfindlich; Antikörper konnten bereits 5 Tage p. i. nachgewiesen werden. Präzipitationstest und Fluoreszenztest wurden erst 20 Tage, die KBR erst nach 40 Tagen positiv.

Der Indirekte-Fluoreszenz-Antikörper-Test wird heute vielfach zur Diagnose der Rindertrypanosomiasis verwendet. SCHINDLER (1972), MEHLITZ und DEINDL (1972) sowie MEHLITZ (1975) führten vergleichende Untersuchungen mit der KBR und dem IFAT durch. Der IFAT erwies sich als spezifischer zum Nachweis homologer und heterologer Reagenten. EINWALD (1976) wies bei mit *Trypanosoma evansi* (Stamm Bogor) infizierten Goldhamstern mit dem IFAT frühestens 6 - 19 Tage p. i. Antikörper im Serum nach. Die Titer lagen anfangs zwischen 1:20 und 1:80 und erreichten maximale Höhen von 1:640.

Zur Chemotherapie der *Trypanosoma evansi*-Infektion bei Labortieren wurde versuchsweise vor allem Berenil verwendet, das bei *Trypanosoma congolense* und *vivax*-Infektionen (FUSSGÄNGER und BAUER 1960, zit. in VERMA, GAUTAM, MALIK 1973) rasche Heilung bringt. 1961 berichtete GILL (zit. in VERMA, GAUTAM, MALIK 1973) über die sehr gute Wirkung gegen *Trypanosoma evansi*-Infektion bei Ratten. Auch GILL und SEN (1964) erreichten mit 5 mg/kg KG i. p. bei mit *Trypanosoma evansi* infizierten Ratten einen Abfall der Parasitenzahl und ein Freiwerden von Parasiten innerhalb von 8 Stunden. Ebenso beobachteten 1967 NADIM und SOLIMAN (zit. in VERMA, GAUTAM, MALIK 1973) das Verschwinden der Trypanosomen aus dem Blut experimentell infizierter Hunde und Ratten 6 - 12 Stunden nach der Behandlung mit 4, 7 und 8 mg/kg KG i. m.

BANSAL und PATHAK (1968) behandelten mit *Trypanosoma evansi* infizierte Hunde mit 3,5 mg/kg KG i. m. und in erhöhten Dosen an 6 verschiedenen Tagen. Es zeigte sich, daß bei den experimentell infizierten und mit Berenil behandelten Hunden, besonders nach Splenektomie, Rückfälle auftraten. OPPONG (1969) berichtet, daß bei 3 Hunden, die akut an *Trypanosoma evansi* erkrankten und mit 3,5 mg/kg KG Berenil behandelt wurden, die Parasitämie bereits gegen Ende der 1. Woche verschwand. Parasitämie bereits gegen Ende der 1. Woche verschwand. Auch die Hornhauttrübung, die Gesichts- und Gliedmaßenödeme besserten sich. Allerdings traten in der 2. Woche allgemeine Schwäche und Ataxie auf, so daß die Tiere starben, obwohl Blutaussstriche und Subinokulationen auf weiße Mäuse sich als negativ erwiesen. HOLZ (1956) stellte fest, daß selbst die "Dosis maximalis tolerata" (weiße Maus 2,5 mg/g KG und Hund 20 mg/kg KG) nicht in der Lage ist, Rezidive bei *Trypanosoma evansi*-Infektionen dieser Wirte zu verhindern.

Bei Meerschweinchen waren schon 15 Minuten nach Berenilbehandlung (7 mg/kg KG) die Beweglichkeit der Trypanosomen herabgesetzt und ihre Teilung gehemmt.

III. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methoden

Der von mir verwendete Trypanosomenstamm wurde im September 1975 aus einem Kalb in Bali (Indonesien) isoliert und auf ein Meerschweinchen übertragen. Infiziertes Meerschweinchenblut wurde nach München ins Institut gesandt und weißen Mäusen inokuliert. Der Stamm wird seitdem durch Passagen auf Versuchstieren, besonders auf weißen Mäusen, im Institut gehalten und wird für vergleichende Untersuchungen mit dem bisherigen Stamm Bogor verwendet.

Für meine Infektions- und Therapieversuche verwendete ich männliche und weibliche Goldhamster, nachdem dieses Labortier sich bei Untersuchungen mit *Trypanosoma evansi* (Stamm Bogor) bewährt hatte (EINWALD, 1976). Im ersten Infektionsversuch wurden drei Monate alte Goldhamster (Gewicht 45 - 80 g), im zweiten Infektionsversuch sowie für die Therapiegruppe fünf bis sechs Monate alte Tiere (Gewicht 80 - 150 g) verwendet.

Die Versuchstiere wurden bei 22° C Raumtemperatur und 40 - 50 % Luftfeuchtigkeit in Einzelkäfigen gehalten. Als Futter wurde Altrominhaltsdiät für Hamster 7o2o der Firma Altrogge und Wasser ad libitum gereicht. Als Zusatzfutter erhielten sie Sonnenblumenkerne, grünen Salat und Äpfel.

Der erste Infektionsversuch umfaßte vier, der zweite zwei Gruppen, wobei jede Gruppe aus fünf Versuchstieren und einem Kontrolltier bestand.

Während der zwei Wochen vor der Infektion entnahm ich jedem Hamster einmal wöchentlich 1,0 ml Blut aus dem retroorbitalen Venenplexus, um repräsentative Normalwerte zu erhalten. Als Volumenersatz erhielt jedes Tier nach der Blutentnahme 1 ml physiologische Kochsalzlösung. Die Tiere waren klinisch gesund und zeigten physiologische Blutwerte. Das Gewicht wurde auf einer Federwaage, die Temperatur rektal mit einem elektrischen Sekundenthermometer gemessen. Das Allgemeinbefinden der Tiere beobachtete ich während der gesamten Versuchsdauer.

Die Infektion aller Versuchstiere erfolgte mit stark trypanosomenhaltigem Mäuseblut (0,5 - 1,0 ml) gleichmäßig mit etwa 1000 Trypanosomen pro Tier. Hierzu zählte ich die Parasiten in der Thoma-Zählkammer aus und stellte die erforderliche Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung her.

Als Kriterien für den Infektionsverlauf dienten die Erythrozytenzahl und der Hämoglobingehalt, die mit dem Spektralphotometer gemessen wurden. Weiterhin wurde die Zahl der Leukozyten in der NEUBAUER-Zählkammer ausgezählt. Den Hämatokrit bestimmte ich mit Hilfe der Mikrohämatokritmethode. Diese diente auch zur Anreicherung und zum Nachweis der Parasiten (WOO, 1970). Um das Differentialblutbild auswerten zu können, wurden Blutausstriche angefertigt und mit Giemsa-Lösung gefärbt.

In Therapieversuchen sollte die Wirksamkeit von Berenil (Dosisabhängigkeit) auf den Verlauf der Trypanosoma evansi-Infektion beim Goldhamster untersucht werden. Hierzu wurden vier Versuchsgruppen gebildet.

Die erste Gruppe von 5 mit je 1000 Trypanosomen infizierten Versuchstieren wurde mit Beginn der Patenz (am 5. - 6. Tage p. i.) mit der vom Hersteller angegebenen therapeutischen Dosis Berenil von 7 mg/kg KG behandelt und 7 Wochen lang beobachtet. 18 Tage nach der Therapie übertrug ich deren Blut auf weiße Mäuse.

Die zweite Gruppe von 12 Goldhamstern (10 infizierte Versuchstiere, ein positives und ein negatives Kontrolltier) wurde ebenfalls mit Beginn der Patenz (5 - 6 Tage p. i.) mit 14 mg/kg KG behandelt. Bei den Tieren, die nach der Therapie mindestens 18 Tage parasitologisch negativ blieben, wurde Blut auf weiße Mäuse subinokuliert und nach 14 Tagen wiederholt.

Diese Subinokulation diente der Feststellung des tatsächlichen Behandlungserfolges. Vielfach verhindert die Behandlung nur die klinische Erkrankung, die Infektion bleibt jedoch latent bestehen.

Eine weitere Gruppe von 5 mit 1000 Trypanosomen infizierten Versuchstieren behandelte ich mit der dreifachen Dosis Berenil (21 mg/kg KG) und beobachtete den Infektionsverlauf über 2 1/2 Monate. 18 Tage nach der Behandlung subinokulierte ich wiederum auf weiße Mäuse.

Eine Gruppe von 5 nicht infizierten Tieren wurde mit 21 mg/kg KG Berenil behandelt, um eine evtl. auftretende Toxizität zu überprüfen.

Auch bei den Therapieversuchen dienten, wie bei den Infektionsversuchen, dieselben Parameter zur Beurteilung des Krankheitsverlaufs und der Wirksamkeit des Medikaments.

Für eine spätere serologische Untersuchung von Seren gewann ich durch Zentrifugieren der Mikrohämatokritröhrchen die Seren für den Indirekten Fluoreszenz-Antikörper-Test (IFAT). Als Antigen verwendete ich Objektträger, die mit stark trypanosomenhaltigem Mäuseblut beschickt und mit Methanol fixiert wurden. Die Verdünnungen wurden in einer geometrischen Reihe und zwar in Zweierpotenz hergestellt bis zu einem Verdünnungsgrad von 1 : 640. Dazu verwendete ich Mikrotiterplatten der Fa. COOKE und Mikrodiluter, mit denen ich die Platten mit Phosphatpuffer (PBS) beschickte und mit dem zu untersuchenden Serum verdünnte. Diese verdünnten Seren trug ich auf die markierten Kreise der Objektträger auf, legte sie in eine feuchte Kammer und inkubierte sie 30 Minuten lang bei 37° C in einem Brutschrank. Danach spülte ich die Objektträger unter fließendem Wasser ab, wusch sie dreimal je 5 Minuten in PBS und ließ sie dann lufttrocknen. Anschließend beschickte ich die Objektträger an den markierten Kreisen mit einem von der Biologischen Arbeitsgemeinschaft GmbH (Lich) angefertigten, Fluorescein-markierten Kaninchen-Antihamster-Globulin, das mir als Konjugat diente. Dieses Globulin verdünnte ich mit PBS im Verhältnis 1 : 10 und setzte der Konjugatverdünnung außerdem Evansblue im Verhältnis 1 : 2000 zu, um eine unspezifische Fluoreszenz zu vermindern. Nach wiederholtem Inkubieren für 30 Minuten, kurzem Abspülen unter fließendem Wasser und erneutem, dreimaligem Waschen in PBS je 5 Minuten, ließ ich die Objektträger wiederum lufttrocknen und deckelte sie mit PBS-gepuffertem Glycerin ein. Danach untersuchte ich die Proben auf ihren Antikörper-Titer mit einem Fluoreszenzmikroskop der Fa. LEITZ bei 400-facher Vergrößerung.

B. Ergebnisse

1. Verlauf der Trypanosoma evansi-Infektion

Die Untersuchungen wurden an 20 drei Monate alten Hamstern (Gruppe 1) sowie an 10 fünf bis sechs Monate alten Tieren (Gruppe 2) durchgeführt. Es sollten dabei eventuelle Unterschiede, bedingt durch das Alter, im klinischen Verlauf überprüft werden. Die Versuche führte ich jeweils an Untergruppen zu je 5 Tieren durch, da beim Hamster Blutentnahmen im allgemeinen nur einmal wöchentlich vertretbar sind.

Gruppe 1 (3 Monate alte Versuchstiere)

Eine Infektion mit 1000 Trypanosoma evansi pro Tier führte zu einer Erkrankung mit meist akutem Verlauf und tödlichem Ausgang. Während zwei Tiere bereits nach 8, zwei nach 10, drei nach 13 und drei nach 18 Tagen starben, erlagen fünf Tiere nach 20, zwei nach 22 und je ein Tier nach 27, 33 bzw. 53 Tagen. Hieraus läßt sich eine durchschnittliche Krankheitsdauer von etwa 20 Tagen errechnen.

An klinischen Symptomen fielen anfangs kurzzeitige Fieberanfälle, die meist zum Zeitpunkt hoher Parasitämie auftraten, auf (Temperaturerhöhung um 0,8 bis 1,0° C). Später wurden Gewichtsabnahmen (Tabelle 1), Exsikkose und vereinzelt eitrig Konjunktivitis beobachtet. Die letzten Tage vor dem Tod waren die Tiere kachektisch und apathisch.

Tab. 1: Übersicht über die Körpergewichte in g von
5 mit *Trypanosoma evansi* infizierten Gold-
hamstern (der Untergruppe 3)

Vers.Tier Nr.	Gewicht in g am ... Infektionstag					gestorben am ... Infektionstag
	1.	7.	13.	18.	20.	
11	75,2	73,2	71,8	71,2	71,6	22
12	62,6	57,6	54,5	44,6	44,2	22
13	89,9	84,8	84,8	76,0	76,0	21
14	62,2	60,2	57,3			13
15	71,0	68,7				10
Kontrolle	71,0	78,2	83,8	83,9	86,7	-

Nach der künstlichen Infektion der Versuchstiere mit je 1000 *Trypanosoma evansi* ließen sich erstmals am 3. - 5. Tag geringgradig Parasiten nachweisen (330 Parasiten/mm³). Bei den längere Zeit überlebenden Hamstern (z. B. der Untergruppe 2) stieg die Parasitenzahl allmählich bis zu einem Maximum von 384000 Trypanosomen pro mm³ an und fiel dann auf geringe Werte ab. Auffallenderweise starben die Tiere bei relativ niedriger Parasitämie.

Zwischen dem 10. und 12. Infektionstag trat bei den Versuchstieren eine deutliche Anämie auf. Die durchschnittliche normale Erythrozyten-Zahl von 7,25 Mio/mm³ fiel im Verlauf der Infektion bis zu durchschnittlich 4,77 Mio/mm³ Blut (in der Untergruppe 1) ab,

wobei Einzelwerte von $1,35 \text{ Mio/mm}^3$ Blut nachgewiesen werden konnten (Tabelle 2).

Tab. 2: Durchschnittswerte der Erythrozytenzahl/ mm^3
bei 5 Versuchshamstern (der Untergruppe 1)

Tag p.i.	Erythrozytenzahl Mio/mm^3			Bemerkungen	Kontroll- tiere
	Maximal	Minimal	Durchschnitt		
Normalwerte	7,85	7,0	7,29	14 Tg. vor Infektion	6,75
Normalwerte	8,20	6,5	7,5	8 Tg. vor Infektion	7,7
5.	7,4	6,25	6,6		7,6
11.	7,95	5,45	6,38		6,6
15.	5,05	3,5	4,4		6,5
19.	4,4	4,1	4,23	1 Tier gest.	5,65
22.	-	-	1,35	4 Tiere gest.	7,15
25.	-	-	4,1		6,8
27.	-	-	5,0		7,05
32.	-	-	5,6		6,95
34.	-	-	4,2	am 34. Tag gestorben	7,0

Als Beispiel für das Absinken des Hämoglobingehaltes werden die an den 5 Versuchstieren der Untergruppe 3 erhobenen Werte in der Tabelle 3 dargestellt. Für alle 20 infizierten Hamster lag der durchschnittliche Hämoglobingehalt bei $18,4 \text{ g } \%$ und fiel während der Infektion bis auf $14,64 \text{ g } \%$ ab, wobei bei einzelnen Tieren Minimalwerte von $7,0 - 8,8 \text{ g } \%$ vorlagen.

Tab. 3: Durchschnittswerte des Hämoglobingehaltes (g %) bei 5 mit *Trypanosoma evansi* infizierten Goldhamstern (der Untergruppe 3)

Tag p. i.	Hämoglobingehalt (g %)			Bemerkungen	Kontrolltiere
	Maximal	Minimal	Durchschnitt		
Normalwerte	21,0	15,8	17,52	14 Tage vor Infektion	16,9
Normalwerte	22,6	18,2	20,2	8 Tage vor Infektion	18,9
7.	16,9	14,9	15,76	-	16,2
14.	16,2	8,8	13,47	1 Tier gest.	16,2
19.	16,6	11,8	14,73	2 Tiere gest.	17,7
21.	13,8	11,7	12,73	-	16,1

Der Hämatokrit, dessen durchschnittlicher Normalwert für alle 20 Tiere bei 47,1 Vol. % lag, sank während der Infektion kontinuierlich ab. Bei Tieren, die die Infektion länger überstanden, konnte ein mehr fluktuierender Verlauf des Hämatokritwertes festgestellt werden, wobei jedoch am Ende der Infektion die Maximalwerte nicht mehr erreicht wurden. In Tabelle 4 sind die Werte der Untergruppe 4 beispielhaft dargestellt.

Tab. 4: Durchschnittswerte des Hämatokrits (Vol. %) bei 5 mit *Trypanosoma evansi* infizierten Goldhamstern (der Untergruppe 4)

Tag p. i.	Hämatokrit (Vol. %)			Bemerkungen	Kontrolltiere
	Maximal	Minimal	Durchschnitt		
Normalwerte	50	45	49	14 Tage vor Infektion	47
Normalwerte	54	47	49,2	8 Tage vor Infektion	50
8.	51	39	43,5	-	46
14.	39,5	29	34,2	3 Tiere gest.	45
18.	37	23	30	-	47

Die Leukozytenzahl ergab einen Mittelwert von $8650/\text{mm}^3$ Blut, jedoch keine wesentlichen Veränderungen während des Infektionsverlaufs. Klare Aussagen sind nicht möglich, da die Schwankungsbreite auch bei den Kontrolltieren erstaunlich hoch war. Dies ist bereits mehrfach für den Goldhamster in der Literatur beschrieben.

Beim Differential-Blutbild ließen sich deutliche Veränderungen erkennen. Die neutrophilen Granulozyten nahmen zwischen dem 10. und 12. Tage p. i. zum Teil erheblich zu, die Lymphozyten jedoch stark ab. Zur selben Zeit konnte eine deutliche Linksverschiebung des Kernindex festgestellt werden. Die Durchschnittswerte der 5 Versuchstiere der Untergruppe 1 sind in der Tabelle 5 aufgeführt.

Tab. 5: Durchschnittswerte des Differentialblutbildes (in %) von 5 mit *Trypanosoma evansi* infizierten Goldhamstern (der Untergruppe 1)

Tag p. i.	Granulozyten		c) Lymphozyten	Bemerkungen	Kontrolltier		
	a) segment-kernige	b) stab-kernige			a)	b)	c)
Normalwerte	32,4	1,6	67,0	8 Tage vor Infektion	54	4	40
5.	24,4	2,8	69,4		83	3	14
11.	45,4	2,5	52,4		18	2	80
15.	52,4	4,6	43,0		19	3	78
19.	42,3	4,0	53,6		16	1	83
22.	46,0	2,0	51,5	2 Tiere gestorben	18	4	78
25.	33,0	5,0	62,0	4 Tiere gestorben	22	2	72
27.	51,0	4,0	45,0		15	3	82
32.	49,0	1,0	50,0		15	-	85
34.	51,0	2,0	46,0		26	5	69

Gruppe 2 (5 - 6 Monate alte Tiere)

Der Versuch an diesen 10 Goldhamstern sollte klären, ob eine Infektion mit 1000 Trypanosoma evansi (Stamm Bali) bei etwas älteren Tieren anders verläuft als bei den Goldhamstern der Gruppe 1 (3 Monate). Auch hier erfolgte eine Unterteilung in die Untergruppen 5 und 6 mit jeweils 5 Tieren.

Allgemein zeigte sich keine wesentliche Abweichung im klinischen Verlauf. Je 1 Versuchstier starb am 11., 13., 15. bzw. 16. Infektionstag, die restlichen 6 Tiere lebten 21 - 23 Tage p. i. (durchschnittlich 19 Tage). Die Körpergewichte nahmen um etwa 20 g je Versuchstier ab, die Erythrozytenzahlen fielen geringgradig, der anfängliche Hämoglobingehalt von 18,5 g % erreichte kurz vor dem Sterben der Tiere 13,2 g %, der Hämatokrit von 48,6 Vol. % war auf 33,0 Vol. % reduziert. Die in der Untergruppe 6 an verschiedenen Tagen erhobenen Durchschnittswerte werden in Tabelle 6 wiedergegeben.

Tab. 6: Durchschnittswerte der Erythrozytenzahl, des Hämoglobingehaltes und des Hämatokrits bei 5 mit Trypanosoma evansi infizierten Goldhamstern (der Untergruppe 6)

Tag p. i.	Erythrozytenzahl/mm ³		Hämoglobingeh. g %		Hämatokrit Vol. %		Bemerkungen
	Vers. Tiere	Kontrolle	Vers. Tiere	Kontrolle	Vers. Tiere	Kontrolle	
Normalwerte	7,17	6,75	18,5	16,6	48,6	44	8 Tage v. Inf. 4 Tiere gest.
4.	6,62	6,0	16,06	16,4	46,4	40	
8.	5,53	5,55	14,3	13,4	37,0	36	
14.	4,7	6,3	13,2	15,2	33,0	40	

Da auch die Werte der Kontrolle größere Schwankungen zeigen, sind Schlußfolgerungen hieraus ebenso unmöglich, wie aus den Mittelwerten der Leukozyten und des Differentialblutbildes.

Pathologisch-anatomisch konnte ich bei allen Tieren völligen Schwund des Eingeweidefetts, Fettleber, Lymphadenitis und erhebliche Splenomegalie feststellen. Die Milz war bei den meisten Tieren um mehr als das Doppelte vergrößert.

Der Versuch, in den Seren all dieser Tiere Antikörper im Fluoreszenztest nachzuweisen, scheiterte. Es ist anzunehmen, daß die Infektionszeit zu kurz war; der größte Teil der Tiere starb ja bereits nach 18 Tagen.

2. Therapie-Versuche mit Berenil

Da in der Literatur relativ wenig Angaben über die für eine Abtötung von *Trypanosoma evansi*-Feldstämmen notwendige Berenildosis zu finden sind, wurde die Wirksamkeit von 7 mg/kg KG Berenil an 5, von 14 mg/kg KG an 10 und von 21 mg/kg KG an 5 Tieren überprüft. Diese Versuche ließen ein Überleben der Tiere erwarten, so daß auch serologische Untersuchungen erfolgreich erschienen.

a) 7 mg/kg KG Berenil

Die fünf mit 1000 Trypanosomen/Tier infizierten Hamster wurden am 6. bzw. 7. Tag p. i. parasitologisch positiv. Es erfolgte nun die Therapie mit 7 mg/kg KG Berenil. Drei Tiere waren bereits am folgenden Tag negativ und blieben dies auch während der 7-wöchigen Versuchsdauer (überprüft durch tägliche Blutuntersuchungen, sowie durch Subinokulation

von Blut auf weiße Mäuse am 18. Tag nach Therapie). Die beiden anderen Tiere behielten auch nach wiederholten Berenilgaben weiterhin Parasiten im Blut. Mit 7 mg/kg KG Berenil konnte also eine Heilung (= völlige Parasitenfreiheit) nicht erzielt werden.

Alle fünf Tiere, auch die parasitologisch negativ gebliebenen, zeigten einen Abfall der Erythrozytenzahl und des Hämoglobingehalts, während der Hämatokritwert gering abfiel. Die Erythrozytenzahl nahm bei den negativ gebliebenen Tieren von $7,16 \text{ Mio/mm}^3$ auf $6,45 \text{ Mio/mm}^3$, der Hämoglobingehalt von 19,0 g % auf 16,3 g % ab und der Hämatokrit wurde von 50 Vol. % auf 46,6 Vol. % reduziert. Bei den parasitologisch positiv gebliebenen Tieren fiel die Erythrozytenzahl von $6,95 \text{ Mio/mm}^3$ auf $6,5 \text{ Mio/mm}^3$, der Hämoglobingehalt von 18,8 g % auf 14,4 g % und der Hämatokrit von 48 Vol. % auf 44 Vol. %. Die Leukozyten und das Differentialblutbild zeigten keine wesentlichen Veränderungen, sowohl bei den negativen als auch bei den positiven Tieren. Die parasitologisch negativ gebliebenen Tiere nahmen im Durchschnitt in 7 Wochen 15 g zu, während die parasitologisch positiven Tiere im selben Zeitraum nur 2,5 g Gewichtszunahme zeigten.

Serologisch konnten bei allen Tieren mit dem IFAT Antikörper-Titer von 1 : 20 bis 1 : 80 zwischen dem 14. und 28. Tage p. i. zum ersten Mal nachgewiesen werden. Während des weiteren Verlaufs der Infektion fluktuierte der Antikörper-Titer Verlauf, wobei jedoch bis 66 Tage p. i. nie Titer über 1 : 80 auftraten (Tabelle 7).

Tab. 7: Nachweis von Antikörpern gegen Trypanosoma evansi (Stamm Bali)
bei 5 Goldhamstern nach Therapie mit 7 mg/kg KG Berenil im IFAT

Versuchs- Tier Nr.	Titerhöhen am ... Tag p. i.									nach Therapie parasitologisch negativ/positiv
	1. Tag	7. Tag	14. Tag	21. Tag	28. Tag	35. Tag	42. Tag	49. Tag	66. Tag	
C 1	-	-	-	-	1 : 2o	1 : 2o	1 : 4o	-	-	negativ
C 2	-	-	1 : 4o	1 : 8o	1 : 4o	1 : 4o	-	1 : 1o	-	positiv
C 3	-	-	1 : 4o	1 : 4o	1 : 4o	1 : 2o	1 : 4o	1 : 4o	1 : 2o	negativ
C 4	-	-	-	1 : 2o	1 : 4o	1 : 2o	1 : 2o	1 : 4o	1 : 2o	positiv
C 5	-	-	1 : 4o	1 : 4o	1 : 2o	1 : 4o	1 : 2o	1 : 2o	1 : 8o	negativ

b) 14 mg/kg KG Berenil

Zehn Versuchstiere, unterteilt in zwei Gruppen à 5 Hamster, wurden mit 1000 Trypanosomen/Tier infiziert und zwischen dem 4. und 7. Tage p. i. parasitologisch positiv. Nach einer einmaligen Therapie mit 14 mg/kg KG Berenil wurden die Tiere am nächsten Tage zwar negativ, 6 jedoch wiesen ab dem 12., 14., 19., 21. Tag bzw. 28. Tag wiederum Trypanosomen im Blut auf. Sie starben alle zwischen dem 21. und 63. Tag p. i. Die vier negativen Tiere blieben bis Versuchsende frei von Parasiten (Subinokulation am 18. und 32. Tag nach Therapie). Das erste Auftreten von Parasiten im peripheren Blut war zwischen dem 5. und 7. Tag p. i. Bei den nach der Behandlung positiv gebliebenen Tieren nahm die Parasitämie einen fluktuierenden Verlauf an, wobei Werte zwischen 330 Parasiten und 481.400 Parasiten/mm³ Blut nachgewiesen werden konnten.

Antikörper konnten erstmals zwischen dem 11. und 16. Tage p. i. nachgewiesen werden, wobei sich Titer zwischen 1 : 10 und 1 : 640 zeigten. Der Titer-Verlauf wies bei allen Tieren 2 - 3 Peaks mit Maximal-Titern von 1 : 320 bis 1 : 640 auf und verhielt sich so bis zum Ende der Versuchsreihe.

Durch diesen Therapieversuch ist bewiesen, daß eine Dosis von 14 mg/kg KG Berenil noch zu gering ist, um eine Trypanosoma evansi-Infektion (Stamm Bali) beim Goldhamster zum Erlöschen zu bringen.

Die Durchschnittswerte der Erythrozytenzahl/mm³, des Hämoglobins in g % und des Hämatokrits in Vol. % sind in Tabelle 8 ersichtlich.

Tab. 8: Durchschnittswerte von Erythrozytenzahl/mm³,
Hämoglobin in g %, und Hämatokrit Vol. % bei
5 mit Trypanosoma evansi infizierten Goldham-
stern nach einer Gabe von 14 mg/kg KG Berenil
der Untergruppe 1 (3 Tiere positiv, 2 negativ)

Tag p.i.	Erythrozytenzahl pro mm ³		Hämoglobin g %		Hämatokrit Vol. %		Bemerkungen
	pos.	neg.	pos.	neg.	pos.	neg.	
1.	6,71	6,67	14,66	16,2	44,6	42,5	
2.	4,15	5,2	9,93	12,95	25,3	33,0	
6.	4,25	5,25	12,36	15,65	31,0	40,0	
8.	3,08	4,72	9,16	11,4	25,0	36,0	
13.	3,5	4,67	12,33	15,3	33,0	41,0	
15.	3,3	5,12	9,4	12,7	22,6	39,0	
19.	3,37	5,57	9,7	15,15	21,3	39,0	
21.	3,35	5,25	9,2	14,5	18,0	40,5	1.positives Tier gestorben
26.	2,85	3,5	9,2	13,35	24,0	34,5	
28.	2,75	5,37	11,2	12,7	21,0	37,0	2.positives Tier gestorben
36.	1,85	5,12	14,7	15,05	17,0	43,0	
42.	0,75	4,75	14,5	14,6	15,0	37,5	3.positives Tier gestorben
48.	-	5,22	-	12,0	-	36,5	
55.	-	5,57	-	12,05	-	39,5	

c) 21 mg/kg KG Berenil

5 Versuchstiere wurden mit 1000 Trypanosomen pro Tier infiziert und alle am 6. Tage p. i. parasitologisch positiv. Die Tiere blieben nach der einmaligen Therapie mit 21 mg/kg KG Berenil negativ. Sämtliche Blutwerte blieben im physiologischen Bereich. Die Tiere nahmen an Gewicht zu, hatten normale Körpertemperatur und ein gutes Allgemeinbefinden.

Antikörper konnten zwischen dem 11. und 25. Tage p.i. erstmals mit dem IFAT ermittelt werden. Die höchsten Titer lagen bei 1 : 80 (Tabelle 9).

Die Überprüfung der Berenildosis von 21 mg/kg KG an weiteren 5 nicht infizierten Goldhamstern ergab keinerlei Nebenerscheinungen.

Tab. 9: Nachweis von Antikörpern gegen Trypanosoma evansi (Stamm Bali) bei 5 Goldhamstern
nach Therapie mit 21 mg/kg KG Berenil im IFAT

Versuchs- Tier Nr.	Titerhöhen am ... Tag p. i.										Bemerkungen
	1. Tag	4. Tag	11. Tag	18. Tag	25. Tag	32. Tag	39. Tag	46. Tag	67. Tag		
B 1	-	-	-	-	1 : 10	1 : 10	1 : 10	1 : 10	1 : 10	Alle 5 Tiere nach Therapie parasitolo- gisch negativ	
B 2	-	-	-	1 : 10	1 : 10	1 : 10	1 : 10	-	-		
B 3	-	-	1 : 20	1 : 20	1 : 40	1 : 40	-	1 : 40	1 : 20		
B 4	-	-	1 : 80	1 : 80	1 : 40	1 : 10	1 : 40	-	-		
B 5	-	-	1 : 80	1 : 40	1 : 40	1 : 40	1 : 40	1 : 40	1 : 40		

IV. Besprechung der Ergebnisse

EINWALD (1976) hatte Goldhamster mit *Trypanosoma evansi* (Stamm Bogor) experimentell infiziert und, unabhängig von der Infektionsdosis, einen chronischen Krankheitsverlauf beobachtet. Es traten intermittierendes Fieber, Lymphknotenschwellung und eine makrozytäre Anämie auf. Besonders auffallend waren Hautveränderungen, im wesentlichen Haarausfall und starke Schuppenbildung an Kopf, Rücken und Unterbauch. Beim Stamm Bogor handelt es sich um einen schon seit mehreren Jahren in verschiedenen Instituten gehaltenen Laborstamm.

Vergleichend untersuchte ich den Verlauf der *Trypanosoma evansi*-Infektion bei Goldhamstern, die mit dem in Bali erst vor 1 Jahr isolierten Feldstamm angesteckt wurden. Der Erreger erwies sich virulenter als der Laborstamm, ferner nahm die Erkrankung einen akuten Verlauf. Bei den etwa 3 Monate alten Tieren schwankte die Krankheitsdauer zwischen 8 und 53, bei den 6 Monate alten Hamstern zwischen 11 und 23 Tagen. Es ergibt sich daraus eine durchschnittliche Lebensdauer von 20 Tagen p. i. Die mit dem Laborstamm infizierten Tiere dagegen zeigten eine Krankheitsdauer von 6 bis 28 Wochen. Von einem ebenfalls akuten Verlauf berichteten BAROTTE (1925) von Hunden (10 - 25 Tage), sowie MANUEL (1971) von weißen Ratten (6 - 8 Tage).

An klinischen Symptomen waren besonders auffallend Fieberanfälle, Exsikkosen und relativ rasch eintretende Kachexie. Wegen der nur kurzen Überlebenszeit der Versuchstiere (durchschnittlich 20 Tage) konnten die von CHAND und SINTH (1971) bei späteren Stadien der Erkran-

kung beobachteten Konjunktivitis, Ödeme, Haarausfall und Hautgeschwüre nicht festgestellt werden. Allerdings bestehen recht deutliche tierartliche Unterschiede (MANUEL, 1971; ASSOKU, 1975) z. B. bei Ratten, Kaninchen und Hunden.

Auch die Präpatenz war gegenüber dem abgeschwächten Laborstamm Bogor kürzer. Frühestens am 3., spätestens am 5. Tag p. i. konnte ich Parasiten im Blut nachweisen, während EINWALD (1976) eine Präpatenzperiode beim Goldhamster von 6 - 19 Tagen registrierte. Die von mir bei Goldhamstern beobachtete Präpatenz von 3 - 5 Tagen entspricht derjenigen bei weißen Ratten und Meerschweinchen (ASSOKU, 1975; BHATTACHARYYA und SINHA, 1974).

Bei den parasitologischen Untersuchungen traten Trypanosomen erstmals zwischen dem 3. und 5. Infektionstag auf. Die Parasitämie begann mit niedrigen Werten ($330/\text{mm}^3$) und erreichte bei den länger überlebenden Tieren innerhalb der ersten 3 - 3 1/2 Wochen 3 Peaks (Maximalwerte von 384000 Parasiten/ mm^3). Bei den von EINWALD (1976) mit dem Stamm Bogor angesteckten Goldhamstern ließen sich dagegen 3 Parasitämiephasen mit wesentlich längeren Zwischenräumen (4 - 5 Wochen) feststellen.

Die hämatologischen Untersuchungen ergaben im Verlaufe der Infektion abfallende Erythrozytenzahlen. Während bei den 5 Kontrolltieren der Durchschnittswert $6,68 \text{ Mio}/\text{mm}^3$ betrug, fielen bei den Versuchstieren die Erythrozytenzahlen bis auf Werte zwischen $1,35$ und $3,5 \text{ Mio}/\text{mm}^3$ ab. Auch bei den mit dem Stamm Bogor infizierten Hamstern kam es zu einer kontinuierlichen, allerdings geringeren Abnahme bis zur 15. Woche (Mittelwert $4,2 \text{ Mio}/\text{mm}^3$).

Der Hämoglobingehalt der Erythrozyten bei den 5 Kontrolltieren betrug etwa 16,58 g %. Der durchschnittliche Hämoglobingehalt der Versuchstiere lag bei 18,4 g % und fiel während der Infektion bis auf 14,04 g % ab, wobei einzelne Tiere Minimalwerte von 7,0 bis 8,8 g % aufwiesen. Ähnliche Ergebnisse erzielten KILLICK-KEN-DRICK (1964) bei weißen Ratten (Abfall von 15,4 g % auf 7,2 g %). Auch der Hämatokrit, dessen durchschnittlicher Normalwert bei 47,1 Vol. % lag, sank während der Infektion kontinuierlich stark ab, wobei ein Minimalwert von 18 Vol.% ermittelt werden konnte.

Bei meinen Versuchen blieb die Leukozytenzahl innerhalb der physiologischen Schwankungsbreite. Dagegen berichten JATKAR und PUROHIT (1971) von einem erheblichen Anstieg der Leukozyten bei Ratten nach Trypanosoma evansi-Infektion (9000 Zellen/mm³ Blut). Auch KALTENBACH (1954) stellte bei Kaninchen schon am 3. Infektionstag eine Leukozytose fest. Für Goldhamster muß allerdings gesagt werden, daß die physiologische Schwankungsbreite zwischen 5000 und 10000 liegt. RATHS (zit. in SCHERMER, 1958) berichtet von einer Höchstzahl von 12000 bis 19000 Leukozyten in den frühen Morgenstunden beim Goldhamster. Daher kann beim Einzeltier bei hohen Leukozytenzahlen zu verschiedenen Zeitpunkten der Infektion noch nicht auf pathologische Veränderungen geschlossen werden.

Bei der Auswertung des Differentialblutbildes konnte ich ebenfalls eine Vermehrung der neutrophilen Granulozyten und eine Abnahme der Lymphozyten feststellen, entsprechend den Untersuchungen von KALTENBACH (1949) und EINWALD (1976) an mit Trypanosoma evansi (Stamm Bogor) infizierten Goldhamstern.

Bei der Ermittlung der auf *Trypanosoma evansi* (Stamm Bali) wirksamen Berenildosis verwendete ich 7, 14 und 21 mg/kg KG Berenil. NADIM und SOLIMANN (1967) hatten bei Hunden und Ratten, die sie experimentell mit *Trypanosoma evansi* ansteckten, mit 4, 7 und 8 mg/kg KG Berenil Parasitenfreiheit erreicht (zit. in VERMA, GAUTAM, MALIK, 1973); sie untersuchten lediglich Blutausstriche, führten aber keine Rückübertragungsversuche auf weiße Mäuse durch. Bei den von mir mit dem Stamm Bali infizierten Goldhamstern erwiesen sich sowohl 7 als auch 14 mg/kg KG Berenil als nicht befriedigend. Erst Dosen von 21 mg/kg KG führten zur "sterilisatio magna" und zur völligen klinischen Erholung. Dies entspricht Beobachtungen von HOLZ (1956), bei dessen Untersuchungen weder 2,5 mg/kg KG Berenil bei der weißen Maus noch 20 mg/kg KG beim Hund Rezidive verhindern konnten. BANSAL und PATHAK (1968) erzielten mit 21 mg/kg KG Berenil bei Hunden eine parasitologische Heilung, ohne toxische Nebenwirkungen.

Serologische Untersuchungen (IFAT) waren nur bei den nach Berenilgaben überlebenden Goldhamstern erfolgreich durchzuführen, wobei erstmals zwischen dem 11. und 25. Tage p. i. Titer nachgewiesen werden konnten. Der höchste Titer war 1 : 640. EINWALD (1976) hatte bei ihren mit dem Stamm Bogor infizierten Goldhamstern bereits zwischen dem 6. und 19. Tag p. i. mit dem IFAT Antikörper nachweisen können. Die Anfangstitern lagen bei 1 : 20 und 1 : 80. Zwischen der 3. und 5. Woche kam es zu einem Titeranstieg mit einem Maximalwert von ebenfalls 1 : 640.

Bei meinen serologischen Ergebnissen stellt sich die Frage, warum es nur bei den mit Berenil behandelten Tieren zur Bildung von Antikörpern kam. Dies mag eventuell darauf beruhen, daß die bis zum Zeitpunkt der Therapie vorhandene Anämie abgeblockt wurde und der Organismus sich erholte. Es ist vorstellbar, daß Berenil eine stimulierende Wirkung auf den Protein- stoffwechsel und somit auf die Antikörperbildung hat. Das schnelle Ansteigen der Erythrozytenzahlen, des Hämoglobingehaltes und des Hämatokrits sowie die Verbesserung des Allgemeinzustandes der Tiere nach der Therapie berechtigen zu dieser Annahme.

V. Zusammenfassung

An experimentell mit je 1000 Trypanosoma evansi (Stamm Bali) infizierten Goldhamstern wurden der klinische Verlauf der Erkrankung, die Möglichkeit der therapeutischen Beeinflussung durch Berenil und die Bildung von Antikörpern untersucht.

Der akute Verlauf der Erkrankung war gekennzeichnet durch Fieber, Lymphknotenschwellung, Anämie, Exsikkose, Gewichtsabnahme. Die Versuchstiere starben durchschnittlich 20 Tage p. i.

Im Verlaufe der Infektion kam es zu einer erheblichen Verringerung der Erythrozytenzahlen sowie zu einem Abfall der Hämoglobinwerte und des Hämatokrits. Die Leukozytenzahl blieb unverändert. Die neutrophilen Granulozyten nahmen zu, die Lymphozyten entsprechend ab.

In Therapieversuchen erwiesen sich erst 21 mg/kg KG Berenil als die gegen Trypanosoma evansi (Stamm Bali) absolut wirksame Dosis.

In den Seren der mit Berenil behandelten Goldhamster ließen sich mit dem IFAT Antikörper erstmals zwischen dem 11. und 25. Tag nachweisen.

CLINICAL COURSE, SEROLOGY AND THERAPY OF TRYPANOSOMA
EVANSI-INFECTION (BALI STRAIN) IN GOLDEN HAMSTERS

Summary

The clinical course of disease, the possibilities of therapeutic influence by Berenil as well as the creation of antibodies were examined as to golden hamsters infected experimentally by 1000 Trypanosoma evansi (Bali strain) per animal.

The acute course of disease was characterized by fever, lymphadenitis, anaemia, exsiccosis and loss in weight. In average, the test animals died 20 days p. i.

During course of the infection a considerable decrease of erythrocytes as well as a reduction of haemoglobin and of haematocrit occurred. The number of leucocytes did not change. The quantity of neutrophil granulocytes increased, the lymphocytes decreased correspondingly.

In therapeutic tests only 21 mg Berenil per kg body weight proved to be an absolute effective dosis against Trypanosoma evansi (Bali strain).

In sera of golden hamsters treated with Berenil antibodies could be first detected by IFAT method between the 11th and 25th day.

VI. Literaturverzeichnis

1. ASSOKU, R. K. G. (1975): Immunological studies of the mechanism of anaemia in experimental Trypanosoma evansi infection in rats. Int. J. Parasit. 5, 137 - 145
2. EANSAL, S. R., R. C. PATHAK (1968): Therapeutic efficacy of "Berenil" in experimental trypanosomiasis (Surra). Ind. J. Anim. Health 7, 283
3. BAROTTE, J. (1925): Les trypanosomiasés de l'Afrique du Nord. Mém. Soc. Sci. nat. Maroc. II, 1
4. BHATTACHARYA, U. K., P. K. SINHA (1974): Behaviour of experimental infection of Trypanosoma evansi in guinea pig. Ind. J. Anim. Health 13, 47 - 51
5. CHAND, K., SINGH, R. P. (1971): A study on the clinical course of trypanosomiasis in goats, dogs and rabbits experimentally infected with Trypanosoma evansi. J. Res. (Ludhiana) 8, 270 - 274
6. CHOUDHURY, A., K. K. MISRA (1972): Experimental infection of Trypanosoma evansi in the cat. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 66, 672 - 673
7. EINWALD, M. (1976): Klinische und serologische Untersuchungen an künstlich mit Trypanosoma evansi infizierten Goldhamstern. Vet. med. Diss. München
8. GALUZO, I. G., V. F. NOVINSKAJA (1960): Trypanosomes of animals in Kazakhstan. Trudy Inst. Zool. Akad. Nauk. Kazakh. SSR 14, 3 (in Russian) ref. nach Hoare (1972)
9. GILL, B. S. (1965): Studies on the serological diagnosis of Trypanosoma evansi. J. comp. Path. 75, 175 - 183
10. GILL, B. S., D. K. SEN (1964): Studies on Surra. IV. Action of Berenil, Suramin and Quinpyramine on Trypanosoma evansi. Ind. J. vet. Sci. 34, 135 - 143
11. GOMEZ RODRIQUEZ, R. J. (1956): Estudio de la trypanosomiasis natural del canino. Rev. Med. Vet. Parasit. Caracas 15, 63 - 105
12. HOARE, C. A. (1965): Vampire bats as vectors and hosts of equine and bovine trypanosomes. Acta Trop. XXII, 3, 204 - 216
13. HOARE, C. A., S. C. J. BENNETT (1937): Morphological and taxonomic studies on mammalian trypanosomes. III. Spontaneous occurrence of strains of Trypanosoma evansi devoid of kinetonucleus. Parasitology 29, 43 - 56

14. HOARE, C. A. (1972): The trypanosomes of mammals. A zoological monograph. Blackwell scientific publications, Oxford and Edinburgh.
15. HOLZ, J. (1956): Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung von "Berenil" auf *Trypanosoma evansi*, Stamm Bogor. Zentr. Bl. für Vet. Med. 3, 605 - 611
16. JATKAR, P. R., M. S. PÜROHIT (1971): Pathogenesis of anaemia in *Trypanosoma evansi* infection. I. Haematology. Ind. Vet. J. 48, 239 - 244
17. KALTENBACH, A. (1954): Das Leukozytenbild bei natürlicher und experimenteller Surra-Infektion. Ztschr. Tropenmed. Parasit. 5, 96 - 108
18. KILLICK-KENDRICK, R. (1964): The apparent loss of the kinetoplast of *Trypanosoma evansi* after treatment of an experimentally infected horse with "Berenil". Ann. Trop. Med. Parasitol. 58, 481 - 490
19. KRIJGSMANN, B. J. (1933): Biologische Untersuchungen über das System Wirtstier-Parasit. I und II. Teil: Die Entwicklung von *Trypanosoma evansi* in Maus und Ratte. Ztschr. Parasitkde 5, 592 - 678
20. LUMSDEN, W. H. R. (1967): Trends in research on the immunology of trypanosomiasis. Bull. WHO. 37, 167 - 175
21. MANUEL, M. F. (1971): Experimental infection of rabbits with *Trypanosoma evansi*. Philippine J. Vet. Med. X, 42 - 44
22. MEHLITZ, D. (1975): Serologische Untersuchungen zur Subgenus-Differenzierung und zur Antikörperresistenz nach Trypanosomeninfektionen. Tropenmed. Parasit. 26, 265 - 275
23. MEHLITZ, D., G. DEINDL (1972): Serological studies on cattle experimentally infected with african trypanosomes. Tropenmed. Parasit. 23, 411 - 417
24. MORALES, G. A., F. CARRENO (1976): The *Proechimys* rat; a potential laboratory host and model for the study of *Trypanosoma evansi*. Trop. Anim. Health, Prod. 8, 122 - 124
25. OPPONG, E. N. W. (1969): Toxicity of Berenil in the dog. Vet. Rec. 85, 370
26. RAETHER, W. (1971): Infektionsversuche an *Mastomys natalensis* mit Trypanosomenspezies der Lewisii-Congolense- und Brucei-Evansi-Gruppe. Tropenmed. Parasit. 22, 351 - 369
27. ROGERS, L. (1901): The transmission of *Trypanosoma evansi* by horseflies and other experiments pointing to the probable identity of Surra and Nagana or tsetse-fly disease in Africa. Proc. R. Soc. Ser. B. 68, 163 - 170
28. SAMADDAR, J. (1969): Immunologic response with reference to the humoral changes in Surra. Ind. Vet. J. 46, 386 - 393

29. SCHERMER, S. (1958): Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere. Johann Ambrosius Barth/Verlag/Leipzig.
30. SCHINDLER, R. (1972): Untersuchungen über die Brauchbarkeit serologischer Verfahren für die Diagnose der Rindertrypanosomiasis in Afrika. Tropenmed. Parasit. 23, 78 - 88
31. SRIVASTAVA, R. V. N., M. N. MALHOTRA, P. K. R. IYER (1969): Pathology of experimental Trypanosoma evansi infection in dogs. Ind. J. Anim. Sci. 39, 307 - 314
32. SRIVASTAVA, R. P., S. S. AHLUWALIA (1972): Clinical observations on pigs experimentally infected with Trypanosoma evansi. Ind. Vet. J. 49, 1184 - 1186
33. VERMA, B. B., O. P. GAUTAM, P. D. MALIK (1973): Diminazine aceturate in the treatment of experimental Trypanosoma infection in buffalo calves. Vet. Rec. 93, 465 - 467
34. WOO, P. T. K. (1970): The haematokrit centrifuge for the detection of trypanosomes in the blood. Can. J. Zool. 47, 921 - 923.

Lebenslauf

Am 24. 03. 1949 wurde ich, Manfred Schärfl, als Sohn des Bezirksdirektors Ernst Schärfl und seiner Ehefrau Hildegard, geb. Bernhardt, in Stuttgart - Bad Cannstatt geboren.

Im Sommer 1949 zogen meine Eltern nach Nürnberg um. Dort besuchte ich von 1955 bis 1959 die Volksschule und wechselte im Herbst 1959 in das Neue Gymnasium Nürnberg über, wo ich 1968 meine Reifeprüfung ablegte. Im WS 68/69 begann ich mit dem Studium der Tiermedizin an der Freien Universität Berlin. Wegen einer schweren Erkrankung meines Vaters mußte ich das Studium nach 2 Wochen abbrechen und belegte in diesem Semester Jura an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen.

Im SS 1969 konnte ich das Studium der Tiermedizin in München erneut beginnen. Anfang 1970 verstarb mein Vater. Am 21. Juni 1974 heiratete ich die Studentin der Tiermedizin Barbara Huber.

Das Staatsexamen bestand ich am 4. Dezember 1975 und erhielt meine Bestallung als Tierarzt am 9. Februar 1976.

München, den 3. Dezember 1976

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor
Dr. Dr. h.c. J. Boch herzlich für die Überlassung
des Themas und die wertvolle Hilfe bei der
Durchführung meiner Arbeit danken.

Mein aufrichtiger Dank gilt Fräulein Dr. von Poschinger,
die mich jederzeit gerne beim experimentellen Teil
meiner Arbeit unterstützte.

